



JC714 U.S. PTO
10/059774
01/30/02

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 101 04 231.0

Anmeldetag: 31. Januar 2001

Anmelder/Inhaber: Consortium für elektrochemische Industrie GmbH,
München/DE

Bezeichnung: Verfahren zur enzymatischen Herstellung von
enantiomerenreinen 1,3-Dioxolan-4-on-Derivaten

IPC: C 12 P, C 07 D

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 17. Januar 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag,

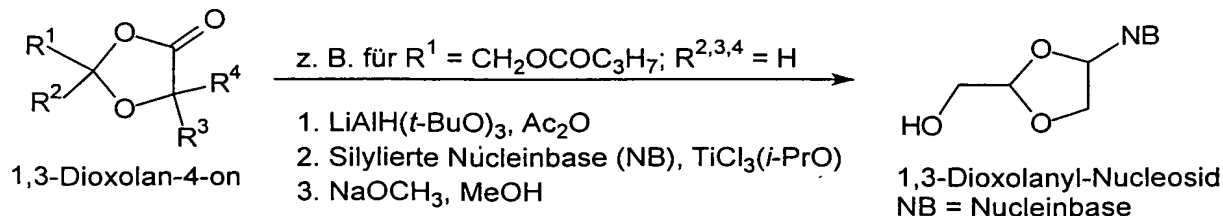
Nietiedt

Verfahren zur enzymatischen Herstellung von enantiomerenreinen 1,3-Dioxolan-4-on-Derivaten

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur enzymatischen Herstellung von enantiomerenreinen 1,3-Dioxolan-4-on-Derivaten.

Enantiomerenreine Derivate dienen als Ausgangsmaterialien bzw. Zwischenprodukte bei der Synthese von Agrochemikalien und Pharmazeutika. Viele dieser Verbindungen werden zur Zeit als Racemat oder Diastereomergemisch hergestellt und vermarktet. In vielen Fällen wird der gewünschte physiologische Effekt aber nur von einem Enantiomer/ Diastereomer bewirkt. Das andere Isomer ist im günstigsten Fall inaktiv, es kann aber auch dem gewünschten Effekt entgegenwirken oder sogar toxisch sein. Verfahren zur Trennung von Racematen werden deshalb immer wichtiger für die Darstellung hochenantiomerenreiner Verbindungen.

Es ist bekannt, dass die Racemattrennung chiraler Verbindungen mit Hilfe von Enzymen durchgeführt werden kann. In einer Vielzahl von Publikationen werden enzymatisch kinetische Racematspaltungen von Estern mit Lipasen und Esterasen beschrieben. Es gibt jedoch bisher kein Verfahren, dass die einfache Trennung von 1,3-Dioxolan-4-on-Derivaten erlaubt. Die reinen Enantiomere dieser Derivate sind von großem Interesse für die Herstellung von anti-viral wirksamen Verbindungen, wie z. B. das 1,3-Dioxolanyl-Nucleosid „Dioxolane-T“ (NB = Thymin in Gleichung 1) und ähnlichen Strukturen (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993, 3(2), S. 169-174).



Gleichung 1

Zur Herstellung von enantiomerenreinen 1,3-Dioxolanyl-Nucleosiden wird die Trennung in die Enantiomere bisher auf der erheblich teureren Nucleosidstufe durchgeführt. Erstmals beschrieben wird dieses Verfahren von L. J. Wilson et al. (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993, 3(2), S. 169-174). Der Buttersäureester der primären Hydroxylgruppe eines 1,3-Dioxolanyl-Nucleosids wird dort mit Hilfe von Schweineleberesterase hydrolysiert und so die beiden reinen Enantiomere in guten optischen Ausbeuten erhalten. WO 00/22157 (Erfinder: Yao, Y. et al.) beschreibt eine Variante dieses Verfahrens durch Resolution in nicht-homogenen Systemen. Diese Verfahren, die Racematspaltung auf einer sehr späten Stufe durchzuführen, bergen den gravierenden Nachteil eines unnötigen Materialverbrauchs und hohen Anlagenbelegungszeiten, da die maximale Ausbeute einer Racematspaltung bei 50% liegt. Die restlichen 50% (die Verbindung mit der falschen Händigkeit) werden im Regelfall verworfen.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein Verfahren zur Herstellung eines enantiomerenreinen 1,3-Dioxolan-4-on-Derivats zur Verfügung zu stellen, welches kostengünstig ist und die genannten Nachteile vermeidet.

Die Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren, bei dem ein Gemisch enthaltend enantiomere 1,3-Dioxolan-4-on-Derivate und ein hydrolytisch wirksames Enzym in Gegenwart eines Nucleophils in Kontakt gebracht werden, wobei der Dioxolanonring eines Enantiomers durch das hydrolytisch wirksame Enzym gespalten wird und nach erfolgter Spaltung des einen Enantiomers das nichtgespaltene Enantiomer des 1,3-Dioxolan-4-on-Derivats isoliert wird.

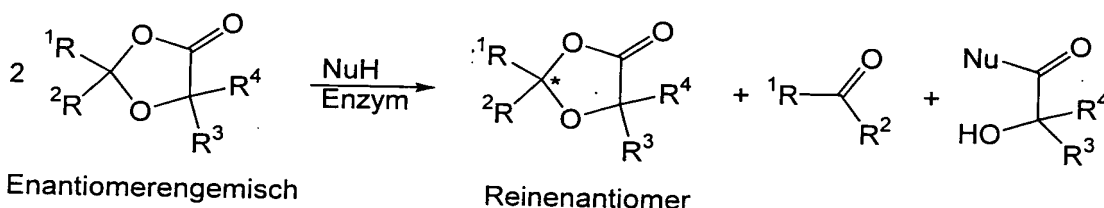
Das erfindungsgemäße Verfahren trennt ein Enantiomerengemisch auf der Dioxolanonstufe und stellt so ein enantiomerenreines Derivat zu Verfügung, welches nun in an sich bekannter Weise die Herstellung eines enantiomerenreinen 1,3-Dioxolanyl-Nucleosids ermöglicht.

1,3-Dioxolan-4-one besitzen im Ring eine hydrolytisch labile Esterbindung, die durch eine enzymkatalysierte Reaktion gespalten werden kann. Überraschend wurde gefunden, dass sich diese Esterbindung im Dioxolanonring sowohl mit hoher Enantio-
 5 selektivität, als auch hoher Regioselektivität gegenüber anderen in der Verbindung vorhandenen hydrolytisch labilen Gruppen durch ein hydrolytisch wirksames Enzym spalten lässt.

Vorzugsweise ist das erfindungsgemäße Verfahren daher dadurch
 10 gekennzeichnet, dass ein Gemisch enthaltend enantiomere 1,3-Dioxolan-4-on-Derivate mit einem Enzym, das zur Spaltung einer Esterbindung befähigt ist in Gegenwart eines Nucleophils der allgemeinen Formel NuH in Kontakt bringt, so dass bevorzugt ein Enantiomer gespalten wird.

15

Diese Spaltung ist schematisch in Gleichung 2 dargestellt,



Gleichung 2

20 wobei die Reste R^1 und R^2 ungleich sind und unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe H, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{18} -Aryl, C_1 - C_{18} -Heteroaryl, C_1 - C_{18} -Alkyl, C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_2 - C_{18} -Alkinyl, C_6 - C_{18} -Aryl- C_1 - C_{18} -Alkyl, C_3 - C_{18} -Heteroaryl- C_1 - C_{18} -Alkyl, C_6 - C_{18} -Aryl- C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_3 - C_{18} -Heteroaryl- C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_1 - C_{18} -Alkoxy- C_1 - C_{18} -Alkyl, C_1 - C_{18} -Alkoxy- C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_6 - C_{18} -Aryloxy- C_1 - C_{18} -Alkyl, C_6 - C_{18} -Aryloxy- C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_3 - C_8 -Cycloalkyl, C_3 - C_8 -Cycloalkyl- C_1 - C_{18} -Alkyl, C_3 - C_8 -Cycloalkyl- C_2 - C_{18} -Alkenyl, $CR^8R^9-O_n-(CO)_m-R^{10}$
 25 und

30 die Reste R^3 und R^4 unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{18} -Aryl, C_1 - C_{18} -Heteroaryl, C_1 - C_{18} -Alkyl, C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_2 - C_{18} -Alkinyl, C_6 - C_{18} -Aryl- C_1 - C_{18} -Alkyl, C_3 - C_{18} -Heteroaryl- C_1 - C_{18} -Alkyl, C_6 - C_{18} -Aryl- C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_3 - C_{18} -Heteroaryl- C_2 - C_{18} -Alkenyl, C_1 - C_{18} -

Alkoxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₂-C₁₈-Alkenyl oder

5 die Reste R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoff an den sie gebunden sind, ein unsubstituiertes oder substituiertes oder ein Heteroatom enthaltendes Cycloalkyliden bilden, und Nu OR⁵, SR⁵, oder NR⁶R⁷ bedeutet wobei

der Reste R⁵ ausgewählt sind aus der Gruppe H, substituiertes
10 oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-Alkynyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl und die Reste R⁶ und R⁷ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe H, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-
15 Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-Alkynyl C₁-C₁₈-Aryl, C₁-C₁₈-Heteroaryl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl und

die Reste R⁸ und R⁹ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus
20 der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-Aryl, C₁-C₁₈-Heteroaryl, C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-Alkynyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, , C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₂-C₁₈-Alkenyl oder die Reste R⁸ und R⁹ zusammen mit dem Kohlenstoff an den sie gebunden sind, ein unsubstituiertes oder substituiertes oder ein Heteroatom enthaltendes Cycloalkyliden bilden, und

30 m und n unabhängig voneinander 0 oder 1 bedeuten, und für den Rest R¹⁰ gilt:

wenn m = 0 dann ist Rest R¹⁰ ausgewählt aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes, C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl oder C₂-C₁₈-Alkynyl, substituiertes oder unsubstituiertes

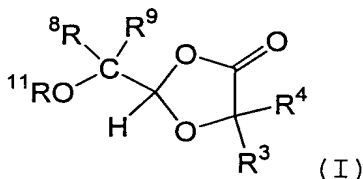
35 C₁-C₁₈-Aryl, C₁-C₁₈-Heteroaryl, substituiertes oder unsubstituiertes Silaalkyl oder Silaaryl, und

wenn $m = 1$ dann ist Rest R^{10} ausgewählt aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes, C_1 - C_{18} -Alkyl, C_2 - C_{18} -Alkenyl oder C_2 - C_{18} -Alkinyl.

5 Soweit es sich bei den Resten um substituierte Reste handelt, sind diese vorzugsweise durch Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Hydroxy, Alkoxy-, Carboxylat-, Alkoxy-carbonyl-, Amino-, Nitro- oder Halogenreste substituiert.

10 Soweit die vorstehend genannten Reste ein Heteroatom enthalten, handelt es sich dabei vorzugsweise um O, N oder S.

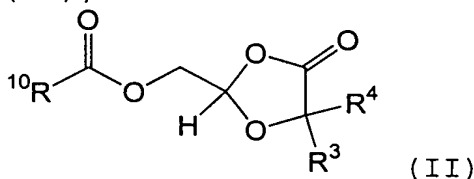
Bevorzugt Verwendung finden Enantiomerengemische der allgemeinen Formel (I),



15 wobei R^3 , R^4 , R^8 und R^9 die bereits genannte Bedeutung haben und

R^{11} substituiertes oder unsubstituiertes, verzweigtes oder unverzweigtes C_1 - C_{18} -Alkyl, C_2 - C_{18} -Alkenyl oder C_2 - C_{18} -Alkinyl, substituiertes oder unsubstituiertes Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Silaalkyl oder Silaaryl bedeuten oder R^{11} COR^{10} bedeutet wobei R^{10} die bereits genannte Bedeutung besitzt.

25 Besonders bevorzugt Verwendung finden Enantiomerengemische der allgemeinen Formel (II),



wobei R^3 und R^4 die bereits genannte Bedeutung besitzen und R^{10} ausgewählt ist aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes, C_1 - C_{18} -Alkyl, C_2 - C_{18} -Alkenyl oder C_2 - C_{18} -Alkinyl.

Das Nucleophil NuH ist bevorzugt ein sauerstoffhaltiges Nucleophil OR⁵.

Besonders bevorzugt handelt es sich bei dem sauerstoffhaltigen Nucleophil um einen niederen, unverzweigten Alkohol, (z. B. Methanol (R⁵ = CH₃) oder Ethanol (R⁵ = CH₂CH₃)) oder Wasser (R⁵ = H).

Für das erfindungsgemäße Verfahren sind prinzipiell alle Enzyme, die zur Spaltung einer Esterbindung befähigt sind, geeignet. Bevorzugt handelt es sich um eine Lipase oder Esterase der Klasse 3.1 gemäß Internationaler Enzym-Nomenklature, Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Wegen ihrer einfacheren Zugänglichkeit besonders bevorzugt handelt es sich um Lipasen oder Esterasen mikrobiellen Ursprungs, Schweinepankreaslipase, Pferdeleberesterase oder Schweineleberesterase.

Als Enzyme mikrobiellen Ursprungs seien beispielsweise genannt Enzyme aus Pilzen, Hefen oder Bakterien wie beispielsweise *Alcaligenes* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Bacillus* sp., *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius*, *Candida antarctica*, *Candida lipolytica*, *Candida rugosa*, *Chromobacterium viscosum*, *Geotrichum candium*, *Mucor miehei*, *Penicillium camembertii*, *Penicillium roquefortii*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* sp., *Rhizomucor javanicus*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus niveus*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Thermoanaerobium brockii*, *Thermomyces lanuginosa*. Besonders bevorzugt werden dabei Lipasen und Esterasen aus *Candida*-Arten wie zum Beispiel *Candida antarctica* B.

Als Enzym ganz besonders bevorzugt sind Novozym[®] 435, 525 (käuflich erhältlich bei Firma Novo, Dänemark), Chirazyme[®] L2, E1, E2 und L7 (käuflich erhältlich bei Firma Böhringer Mannheim, Deutschland).

Das Enzym wird in der Reaktion direkt oder als Immobilisat gebunden an unterschiedlichste Träger eingesetzt.

Ein Immobilisat kann in an sich bekannter Weise hergestellt werden. Dies ist beispielsweise möglich durch Lösen des Enzyms in einem Puffer bei geeignetem pH und anschließender passiver Adsorption an den Träger wie z. B. Diatomeenerde (Celite®), Aktivkohle, Aluminiumoxid, Kieselgel, Kieselguhr, monodispers lösliche Organosiloxanpartikel oder Harze (z. B. Amberlite®, Dowex®). Alternativ können die Enzyme auch kovalent an den Träger gebunden werden (z. B. Polystyrol oder Epoxy-Harze wie Eupergit®). Ein beispielsweise derart an einen Träger gebundenes Enzym kann durch Lyophilisieren getrocknet werden.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren einzusetzende Menge an Enzym hängt von der Art des Edukts, Produkts und der Aktivität der Enzympräparation ab. Die für die Reaktion optimale Enzymmenge kann durch einfache Vorversuche ermittelt werden.

Je nach Enzym liegt das Enzym-Substratverhältnis berechnet als Molverhältnis zwischen Enzym und Dioxolanon-Derivat in der Regel zwischen 1 : 1000 bis 1 : 5000000 oder mehr, bevorzugt bei 1 : 10000 bis 1 : 500000.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann sowohl in reinem Nucleophil (NuH) als Lösungsmittel als auch in Mischungen des Nucleophils (NuH) mit aprotischen oder protogenen Lösungsmitteln oder Lösungsmittelgemischen durchgeführt werden, sofern diese die Reaktivität des hydrolytisch wirksamen Enzyms nicht beeinflussen oder zu unerwünschten Nebenreaktionen führen.

Vorteilhafterweise wird die Reaktion in einer Mischung aus dem Nucleophil und einem geeigneten Lösungsmittel durchgeführt. Geeignete Lösungsmittel sind beispielsweise aliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffe wie Hexan, Cyclohexan, Petrol-ether oder Toluol, halogenierte Kohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid oder Chloroform, Ether wie Methyl-tert.-Butylether (MTBE), Diethylether, Diisopropylether, THF oder Dioxan, Ester, Acetonitril oder gegebenenfalls Alkohole, die kein Nucleophil im Sinne o. g. enzymatischer Reaktion darstellen, wie

z. B. tertiäre Alkohole, oder Mischungen der genannten Verbindungen.

5 Das Verhältnis Nucleophil/ Lösungsmittel (v/v) liegt dabei vorzugsweise in einem Bereich von 1 : 10000 bis 1000 : 1.

Besonders bevorzugt sind Mischungen des Nucleophils mit aprotische Lösungsmittel, wie MTBE oder Diisopropylether in einem
10 Verhältnis Nucleophil/ Lösungsmittel (v/v) von 1 : 100 bis 100 : 1.

Wird als Nucleophil Wasser verwendet ($\text{Nu} = \text{OH}$), so kann, um einen vorgegebenen pH-Wert einzuhalten, dieser durch Zugabe
15 eines Puffers eingestellt werden. Bevorzugt verwendet wird dazu ein $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -Puffer mit einem pH von 7,0. Zum selben Zweck kann auch eine wässrige Lauge, bevorzugt die Lösung eines Alkalihydroxyds in Wasser, besonders bevorzugt die wässrige Lösung von NaOH oder KOH, zugesetzt werden.

20 Die Reaktion wird vorteilhafterweise bei einer Temperatur zwischen 0 °C und 75 °C durchgeführt, bevorzugt zwischen 10 °C und 60 °C, besonders bevorzugt zwischen 20 °C und 50 °C.

Die Reaktionszeiten betragen je nach Substitutionsmusters des Dioxolanons, Wahl des Nucleophils und Lösungsmittels und Enzymart und -menge zwischen 10 Minuten bis 7 Tage. Bevorzugt liegen die Reaktionszeiten zwischen 1 bis 48 Stunden.

30 Der Reaktionsverlauf läßt sich leicht mit üblichen Methoden beispielsweise durch HPLC verfolgen. Bevorzugt kann die Bestimmung des Reaktionsverlaufs durch Messung der Änderung des optischen Drehwerts der Reaktionslösung in einem Polarimeter erfolgen. Besonders bevorzugt erfolgt die Bestimmung des Reaktionsverlaufs online, durch Messung des optischen Drehwerts im
35 einem Nebenschleife des Reaktors. Die Reaktion kann je nach gewünschtem Ergebnis (hohe Umsetzung, hoher Enantiomerenüberschuß des Substrats) beendet werden. Im Idealfall ist die Re-

aktion bei einem Umsatz von 50 % bei einer hohen Enantiomerenreinheit im Substrat beendet.

Vorzugsweise wird die Reaktion beispielsweise durch Separation des Substrats bzw. des Produkts vom Enzym, z. B. durch Extraktion der wässrigen Phase oder Filtration beendet. Der Abbruch der Reaktion kann auch durch Desaktivierung des Enzyms, z. B. durch thermische oder chemische Denaturierung erfolgen.

Falls die Reaktion durch wiederholtes, kontinuierliches Pumpen der Reaktionslösung durch einen mit Enzym gefüllten Behälter durchgeführt wird, (eine besonders bevorzugte Verfahrensführung), wird die Reaktion vorzugsweise durch Beenden des Umpumpens beendet.

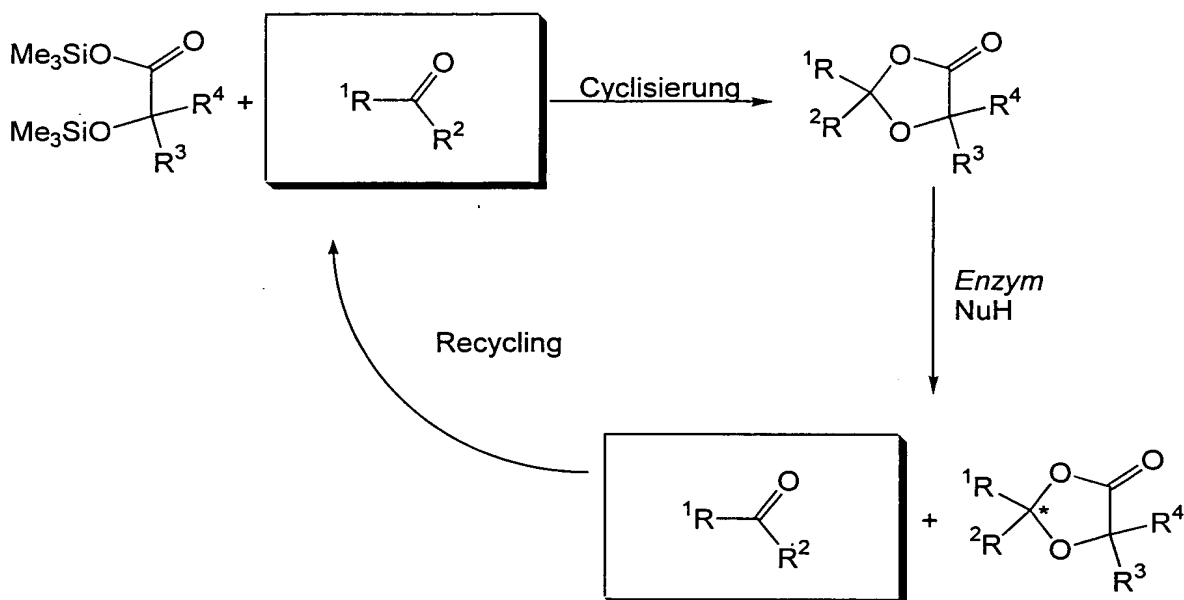
Die Isolierung des nichtgespaltenen reinen Enantiomers erfolgt vorzugsweise durch Abtrennung der bei der Reaktion entstandenen Nebenprodukte und des Lösungsmittels.

Die bei der Spaltung des 1,3-Dioxolan-4-onrings entstehende freie Carbonylverbindung R^1COR^2 und das Säurederivat $HO-CR^3R^4CONu$ können aus der Reaktionslösung durch einfache physikalische Operationen abgetrennt werden. Vorzugsweise geschieht dies durch Destillation.

Darüber hinaus können weitere Abbauprodukte, die bei der Spaltung weiterer funktioneller Gruppen im Molekül gebildet werden leicht abgetrennt werden. Vorzugsweise geschieht dies durch Destillation.

Bevorzugt werden zunächst die niedrigsiedenden Verbindungen destillativ abgetrennt. Überraschend wurde gefunden, dass der Alkohol ($R^1 = H$, $R^2 = CH_2OH$), der als Nebenprodukt bei der Racematspaltung eines Esterdioxolans ($R^1 = H$, $R^2 = CH_2-O-(CO)-R^{10}$) entsteht, durch einfache Extraktion, bevorzugt mit Wasser, abgetrennt werden kann.

Die bei der enzymatischen Reaktion entstehende Carbonylverbin-
dung ist eine wichtige, teure Vorstufe bei der Synthese von
racemischen 1,3-Dioxolan-4-onverbindungen. Sie wird, um Chemi-
kalien und Kosten zu sparen, bevorzugt in die Synthese der
1,3-Dioxolan-4-one eingesetzt (s. Schema 1).



Schema 1: Rückführung der bei der Racematspaltung entstehenden Carbonylverbindung

Die folgenden Beispiele dienen der weiteren Beschreibung der Erfindung.

Beispiel 1: (+)-(R)-2-Methylpropansäure (4-Oxo-1,3-dioxolan-2-yl)methylester (Batch-Prozess)

In einem 1 L 4-Halskolben werden 50.0 g (0.27 mol) racemischer Methylpropansäure (4-Oxo-1,3-dioxolan-2-yl)methylester ($R^1 = H$; $R^2 = CH_2-O-(CO)-CH(CH_3)_2$; $R^3, R^4 = H$) in einer Mischung aus 185 mL MTBE und 185 mL Metanol ($Nu = OCH_3$) gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 2.6 g Novozym® 525 und rührt die Mischung heftig.

An den 4-Halskolben ist über ein Bypass-System ein Polarimeter angeschlossen, mit dessen Hilfe der Reaktionsverlauf anhand der Messung des optischen Drehwerts der Lösung verfolgt wird.

Bei Erreichen der gewünschten Enantiomerenreinheit (Reaktionsverfolgung durch chiral-GC) wird zur Beendigung der Reaktion die Reaktionsmischung vom ungelösten Enzym abfiltriert.

Anschließend wird die Reaktionsmischung im Vakuum eingeeengt.

5 Der Rückstand wird anschließend in 100 mL MTBE aufgenommen und 2 mal mit je 100 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und dann i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Destillation.

10 Ausbeute: 10.3 g (0.05 mol; 20 %)

Sdp.: 55 °C (0.02 mbar)

$[\alpha]_D^{20} = +19.8$ (neat); ee > 98 %

15 Beispiel 2: (+)-(R)-2-Methylpropansäure (4-Oxo-1,3-dioxolan-2-yl)methylester (Säulen-Prozess)

In einem thermostatisierten 0,6 L Glaskolben werden 50.0 g (0.27 mol) racemischer Methylpropansäure (4-Oxo-1,3-dioxolan-2-yl)methylester ($\text{R}^1 = \text{H}$; $\text{R}^2 = \text{CH}_2\text{-O-(CO)-CH(CH}_3)_2$; $\text{R}^3, \text{R}^4 = \text{H}$) in einer Mischung aus 185 mL MTBE und 185 mL Metanol (Nu =

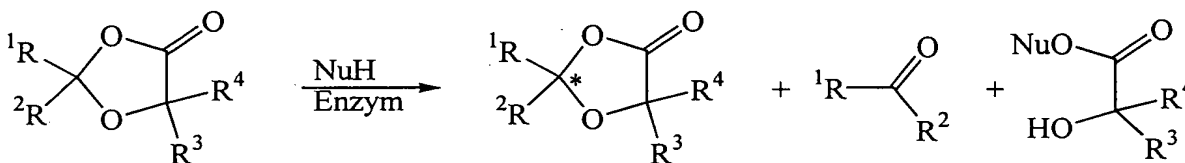
20 OCH_3) gelöst. In eine separate Glassäule füllt man 1.3 g Novozym® 525 und pumpt über ein Schlauchsystem das Substrat-Lösungsmittelgemisch durch die Glassäule (Flußgeschwindigkeit 600 mL/h).

Zum Stoppen der Reaktion (nach ~ 25 h) wird das Umpumpen beendet und das Rohprodukt wie in Beispiel 1 beschrieben gereinigt.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines enantiomerenreinen 1,3-Dioxolan-4-on-Derivats dadurch gekennzeichnet, daß ein Gemisch
5 enthaltend enantiomere 1,3-Dioxolan-Derivate und ein hydrolytisch wirksames Enzym in Gegenwart eines Nucleophils in Kontakt gebracht werden und ein Dioxalonring eines Enantiomers durch das hydrolytisch wirksame Enzym gespalten wird und nach
10 erfolgter Spaltung des einen Enantiomers das nichtgespaltene Enantiomer des 1,3-Dioxolan-4-on-Derivats isoliert wird.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass
das Gemisch enthaltend enantiomere 1,3-Dioxolan-Derivate mit-
tels eines Enzyms, das zur Spaltung einer Esterbindung befähigt
15 ist in Gegenwart eines Nucleophils (NuH) wie in Gleichung 2 dargestellt gespalten wird,



(Gleichung 2)

wobei die Reste R¹ und R² ungleich sind und unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe H, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-Aryl, C₁-C₁₈-Heteroaryl, C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-Alkynyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₂-C₁₈-Alkenyl, CR⁸R⁹-O_n-(CO)_m-R¹⁰
30 und

die Reste R³ und R⁴ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-Aryl, C₁-C₁₈-Heteroaryl, C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-Alkynyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, , C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₁-C₁₈-

Alkoxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₂-C₁₈-Alkenyl oder die Reste R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoff an den sie gebunden sind, ein unsubstituiertes oder substituiertes oder ein Heteroatom enthaltendes Cycloalkyliden bilden, und

Nu OR⁵, SR⁵, oder NR⁶R⁷ bedeutet wobei

der Reste R⁵ ausgewählt sind aus der Gruppe H, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-

Alkinyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl und die Reste R⁶ und R⁷ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe H, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-

Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-Alkinyl C₁-C₁₈-Aryl, C₁-C₁₈-

Heteroaryl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl und

die Reste R⁸ und R⁹ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-Aryl,

C₁-C₁₈-Heteroaryl, C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl, C₂-C₁₈-Alkinyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₁₈-Heteroaryl-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₁-C₁₈-Alkoxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₁-C₁₈-Alkyl, C₆-C₁₈-Aryloxy-C₂-C₁₈-Alkenyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₁-C₁₈-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl-C₂-C₁₈-Alkenyl oder die Reste R⁸ und R⁹ zusammen mit dem Kohlenstoff an den sie gebunden sind, ein unsubstituiertes oder substituiertes oder ein Heteroatom enthaltendes Cycloalkyliden bilden, und

m und n unabhängig voneinander 0 oder 1 bedeuten, und für den Rest R¹⁰ gilt:

wenn m = 0 dann ist Rest R¹⁰ ausgewählt aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes, C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl oder C₂-C₁₈-Alkinyl, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₁₈-Aryl, C₁-C₁₈-Heteroaryl, substituiertes oder unsubstituiertes Silaalkyl oder Silaaryl, und

wenn m = 1 dann ist Rest R¹⁰ ausgewählt aus der Gruppe substituiertes oder unsubstituiertes Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes, C₁-C₁₈-Alkyl, C₂-C₁₈-Alkenyl oder C₂-C₁₈-Alkinyl.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das hydrolytisch wirksame Enzym eine Lipase oder Esterase ist.

5

4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Enzym direkt oder als Immobilisat eingesetzt wird.

10

5. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass Enzym zu Dioxolanon-Derivat berechnet als Molverhältnis zwischen Enzym und Dioxolanon-Derivat in einem Verhältnis von 1 : 1000 bis 1 : 50000000 liegt.

15

6. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Nucleophil ein sauerstoffhaltiges Nucleophil ist.

20

7. Verfahren gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das sauerstoffhaltige Nucleophil ein niederer unverzweigter Alkohol oder Wasser ist.

8. Verfahren gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass der niedere unverzweigte Alkohol Methanol oder Ethanol ist.

9. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass es in Gegenwart eines Lösungsmittels durchgeführt wird.

30

10. Verfahren gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Lösungsmittel ausgewählt ist aus der Gruppe aliphatische Kohlenwasserstoffe, aromatische Kohlenwasserstoffe, halogenierte Kohlenwasserstoffe Ether, Alkohole, die kein Nucleophil im Sinne der erfindungsgemäßen enzymatischen Reaktion sind, Ester, Acetonitril und Mischungen der genannten Verbindungen.

35

11. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Reaktion bei Temperaturen zwischen 0 und 75 °C durchgeführt wird.

5 12. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Reaktion zwischen 10 Minuten und bis zu 7 Tage durchgeführt wird.

10 13. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Isolierung des nichtgespaltenen Enantiomers durch Abtrennung der bei der Reaktion entstandenen Nebenprodukte und des Lösungsmittels erfolgt.

15 14. Verfahren nach Anspruch 13 dadurch gekennzeichnet, daß die Nebenprodukte durch Extraktion und Destillation abgetrennt werden.

Zusammenfassung

Verfahren zur enzymatischen Herstellung von enantiomerenreinen 1,3-Dioxolan-4-on-Derivaten

5

10

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines enantiomerenreinen 1,3-Dioxolan-4-on-Derivats dadurch gekennzeichnet, daß ein Gemisch enthaltend enantiomere 1,3-Dioxolan-Derivate und ein hydrolytisch wirksames Enzym in Gegenwart eines Nucleophils in Kontakt gebracht werden und ein Dioxalon-ring eines Enantiomers durch das hydrolytisch wirksame Enzym gespalten wird und nach erfolgter Spaltung des einen Enantiomers das nichtgespaltene Enantiomer des 1,3-Dioxolan-4-on-Derivats isoliert wird.